LABORATORIUM VOOR PHYTOPATHOLOGIE
WAGENINGEN, NEDERLAND
DIRECTEUR Prof. Dr A. J. P. OORT
MEDEDELING No. 155

ANTIBIOTICA BIJ DE BESTRIJDING VAN PLANTENZIEKTEN

WITH A SUMMARY

ANTIBIOTICS IN THE CONTROL OF PLANT DISEASES WITH SPECIAL REFERENCE TO THE INTERNAL DISINFECTION OF SEED

DOOR

Ir J. DEKKER

Overdruk uit Med. Dir. van de Tuinbouw 18 (8/9) : 623-638, 1955

H. VEENMAN & ZONEN – WAGENINGEN

2 FEB 1955

Overdruk uit: Mededelingen Directeur van de Tuinbouw **18**, *1955: 623—638*

Ir J. DEKKER
Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen

ANTIBIOTICA BIJ DE BESTRIJDING VAN PLANTENZIEKTEN

Antibiotics in the control of plant diseases with special reference to the internal disinfection of seed

Vele antibiotica kunnen één of meer phytopathogene organismen doden of remmen. Een aantal van hen bezitten bovendien de eigenschap door de plant te kunnen opgenomen en getransporteerd worden. Dit opent perspectieven voor de bestrijding van tot nog toe moeilijk bestrijdbare ziekten, waarbij de parasiet onbereikbaar is doordat hij zich diep in de plant of in het zaad bevindt.

Een beknopt overzicht wordt gegeven van de literatuur betreffende mogelijke toepassing van antibiotica tegen plantenziekten, waarna enkele te Wageningen verrichte proeven betreffende inwendige ontsmetting van zaden besproken worden.

Inhoud

623 Inleiding
624 Antagonisme
625 Toediening aan de plant, transport in de plant
626 Effect tegen plantenziekten
628 Inwendige zaadontsmetting
634 Samenvatting
634 Discussie
636 Summary
636 Literatuur

Inleiding

Tot de antibiotica worden die stoffen gerekend, die gevormd worden door levende organismen en het vermogen bezitten andere organismen te doden of in hun ontwikkeling te belemmeren. Vele producenten van antibiotica treffen we aan onder de schimmels, in het bijzonder de straalschimmels of actinomyceten, en de bacteriën, doch ook hogere planten kunnen antibiotica vormen.

Algemeen bekend is de enorme vooruitgang, welke de antibiotica in de geneeskunde mogelijk gemaakt hebben bij de bestrijding van bacteriële infecties. De meest bekende hiervan zijn penicilline, streptomycine, chloromycetine, aureomycine en terramycine.

Het ruime spectrum dat de bovengenoemde antibiotica bleken te bezitten, leidde er toe dat hun werking ook op phytopathogene bacteriën beproefd werd. En daar bij planten, meer dan bij de mens, ook schimmelziekten een belangrijke rol spelen, werd tevens doelbewust gezocht naar fungicide antibiotica. Een sterke stimulans voor het zoeken naar antibiotica tegen phytopathogene micro-organismen was de ontdekking dat vele antibiotica door de plant opgenomen en daarin getransporteerd kunnen worden. Dit opende perspectieven voor de bestrijding van die organismen, welke in-

wendig in de plant of in het zaad aanwezig zijn, en die met de tot nog toe gangbare middelen niet afdoende bestreden kunnen worden. Opname door en transport in de plant zou ook nog andere voordelen kunnen opleveren, met name minder afspoeling door regen, en bescherming van bij de besproeiing niet geraakte of nog niet uitgegroeide plantendelen.

Afgezien van inwendige werking zou beproeving van antibiotica ook daar aan te raden zijn, waar de gangbare bestrijdingsmiddelen schade aan het gewas veroorzaken, zoals dit het geval is bij kopertoediening aan appel- en perebomen tegen „fire blight" in Amerika.

Antagonisme

Micro-organismen, die antibiotica kunnen produceren, worden in velerlei substraten aangetroffen; vele van hen worden geïsoleerd uit grond, mest e.d. Wordt een dergelijk micro-organisme tezamen met een andere schimmel of bacterie, welke gevoelig is voor het betreffende antibioticum, op een kunstmatige voedingsbodem gezet, dan treedt antagonisme op, zich uitend in een groeivrije zone tussen de beide organismen.

Over de vraag in hoeverre deze verschijnselen in natuurlijke grond zelf optreden, en in welke mate het mogelijk is phytopathogene bodemorganismen te bestrijden door een nieuwe antagonist in de grond te brengen, of een aanwezige antagonist te stimuleren, is reeds veel literatuur verschenen.

Bekend is het onderzoek van MEREDITH [49], die door toediening van actinomyceten aan de grond de Panamaziekte bij banaan, veroorzaakt door *Fusarium oxysporum*, bestreed. Een literatuuroverzicht tot 1950 geven WEINDLING e.a. [67]. Daarna worden positieve resultaten gemeld tegen *Rhizoctonia solani* bij erwten en radijs, door Trichoderma viride in de grond te brengen [24], en bij suikerbieten door Bacillus subtilis aan de grond toe te voegen [21]; tegen *Pythium* bij lucerne met Trichoderma lignorum en een Streptomyces species [30], en tegen *Pythium arrhenomanes* bij mais door toediening van bepaalde schimmels of actinomyceten [37, 38].

Helminthosporium victoriae bij haver kan tegengegaan worden door Chaetomium cochlioïdes in de grond te brengen en *Fusarium nivale* door de grond te bedekken met stro, rijk voorzien van een stam van deze schimmel [64].

De bestrijding van plantenziekten op deze wijze heeft echter niet geleid tot resultaten die in de practijk toegepast kunnen worden. Dit is niet verwonderlijk, aangezien in natuurlijke grond een evenwicht tussen de diverse micro-organismen aanwezig is, dat na verstoring zal trachten zich te herstellen. De duidelijkste resultaten met antagonisten tegen phytopathogene bodembewoners werden dan ook meestal verkregen in vooraf gesteriliseerde grond. Bovendien is nog steeds niet bewezen dat in een natuurlijke, onbehandelde grond antibiotica geproduceerd worden [29].

Een groot aantal micro-organismen produceert echter antibiotica in kunstmatige voedingsmedia en zeer vele antibiotica zijn dan ook reeds geïsoleerd door onderzoekers over de gehele wereld.

Een werkmethode voor het zoeken naar antibioticum producerende micro-organismen en de isolering van antibiotica is beschreven door KÖHLER [43]. Onder de tot nu toe ontdekte antibiotica zijn er ongeveer honderd, waarvan in vitro werking tegen phytopathogene organismen gemeld wordt. Het merendeel daarvan is echter te phytotoxisch om voor bestrijding van plantenziekten in aanmerking te kunnen komen.

Toediening aan de plant, transport in de plant

Men heeft getracht plantenziekten te bestrijden door antibiotica aan de grond toe te voegen en deze door de wortels te laten opnemen. In het algemeen leverde dit slechts geringe resultaten op, aangezien de meeste antibiotica in de grond vrij snel geïnactiveerd worden door één van de volgende oorzaken: microbiologische activiteit, adsorptie aan bodembestanddelen, pH, en een niet nader bepaalde vorm van inactivering, die waarschijnlijk chemisch van aard is [36].

Dat antibiotica door de wortels uit voedingsoplossingen opgenomen en van daaruit door de plant getransporteerd kunnen worden, is veelvuldig aangetoond.

ANDERSEN en NIENOW [1] namen reeds in 1947 waar dat streptomycine door de wortels van sojabonen opgenomen en naar de bladeren getransporteerd werd. Bekend is het werk van BRIAN [10], die tarwezaailingen in een voedingsoplossing met griseofulvine (een antibioticum uit 3 species van Penicillium) zette, en na 2 tot 7 dagen dit antibioticum in de guttatiedruppels kon aantonen.

CROWDY e.a. [13] toonden chloramphenicol, streptomycine en griseofulvine aan in de bladeren van *Vicia Faba*, nadat deze antibiotica aan de wortels toegediend waren. Dit zelfde kon door PRAMER [57, 58] aangetoond worden voor chloramphenicol en streptomycine bij komkommerzaailingen, doch niet voor terramycine, neomycine of aureomycine. Aureomycine wordt door de wortels van *Phaseolus lunatus* opgenomen [6], thiolutine door de wortels van tomaat [27], en streptomycine door de wortels van peperzaailingen [12].

Toediening van antibiotica aan de wortels zal, afgezien van het kweken van planten in cultures zonder grond, alleen van belang zijn voor laboratoriumproeven. Eveneens zal dit doorgaans het geval zijn voor enkele andere wijzen van toediening als injectie, indompelen van de plant of van een deel er van in een oplossing of aanbrengen van het antibioticum in pastavorm op delen van de plant.

MITCHELL en medewerkers [51, 52, 53] bestudeerden het transport van streptomycine bij *Phaseolus vulgaris* na aanbrengen van dit antibioticum in lanoline-pasta op diverse bovengrondse delen van de plant. Bij aanbrengen op de stengel konden ze na 8 uur reeds antibiotische activiteit in het bladsap aantonen, en na 5 dagen was 67 % van het toegediende streptomycine in de bladeren terechtgekomen. Het verplaatste zich door de stengel in opwaartse richting, in het blad alleen van het basale gedeelte naar het uiteinde en niet omgekeerd. 100 microgram streptomycine op de stengel verhinderde aantasting van de bladeren door de veroorzaker van de vetvlekkenziekte, *Pseudomonas medicaginis f. phaseolicola*. Transport van streptomycine uit de bladeren naar de stengel en de vruchten konden ze niet aantonen.

BOYLE [8] constateerde diffusie van penicilline in het weefsel van een cactus, *Carnegia gigantea*, na injectie.

In Wageningen kon een bactericide stof aangetoond worden in het sap van de bladeren van een aardappelplant, wanneer één blad gedurende enige tijd in een terramycine-oplossing gedompeld was. Klaarblijkelijk werd het terramycine door het intacte blad opgenomen, en van daaruit naar de stengel en vervolgens naar de andere bladeren getransporteerd.

Een individuele behandeling van de plant zal in de practijk slechts lonend zijn bij planten van betrekkelijk hoge waarde.

DUNEGAN en medewerkers [17] brachten terramycine aan in boorgaten in de stam van perzikbomen en constateerden zowel na natuurlijke als kunstmatige infectie een vermindering van de aantasting door de bacterie *Xanthomonas pruni* en een verminderde bladval; tengevolge van de behandeling trad echter een vergeling van het blad op.

Na behandeling van kersebomen met actidione door sproeien, wat voor de practijk als de meest geschikte methode van toediening van antibiotica aan de plant beschouwd

moet worden, konden HAMILTON en SZKOLNIK [33] vaststellen, dat het antibioticum tot op het palissadeweefsel was doorgedrongen.

Uit deze en andere onderzoekingen is het duidelijk dat vele antibiotica, ondanks hun ingewikkelde structuur, door vele delen van de plant, zowel boven- als ondergrondse, opgenomen en in de plant getransporteerd kunnen worden.

Effect tegen plantenziekten

Of effect tegen een bepaalde ziekte optreedt, zal afhangen van de vraag of de concentratie, die het antibioticum in de plant bereikt, hoog genoeg zal zijn om een beslissende invloed te kunnen uitoefenen op de verhouding tussen plant en parasiet. In deze omschrijving past niet alleen een direct effect van het antibioticum op de parasiet, doch ook een werking welke uitsluitend via de plant optreedt, terwijl het pathogene organisme in vitro niet gedood of geremd wordt door het middel. Zo werken na opname door een afgesneden stengel de bactericide antibiotica terramycine en streptomycine tegen *Phytophthora infestans* resp. op aardappel [7] en tomaat [54].

Meestal is echter effect tegen plantenziekten te danken aan een directe werking op de parasiet. Vele antibiotica blijken werking tegen één of meer plantenziekten te bezitten, doch een aantal van hen heeft een schadelijk effect op de plant. Zo bleek actidione, dat aanvankelijk sterk geprezen werd om zijn fungicide eigenschappen, voor vele planten schadelijk te zijn [28]. Het komt derhalve slechts in zeer lage concentraties in aanmerking voor gebruik in de practijk. In deze lage concentraties heeft het effect tegen een bladvlekkenziekte bij kers, veroorzaakt door *Coccomyces hiemalis* [11, 33].

Van actidione wordt verder effect gemeld tegen meeldauw bij *Phaseolus vulgaris* [25], tegen meeldauw bij braam [69], doch het resultaat tegen appelschurft viel tegen [20]. Tegen *Puccinia graminis tritici* bij tarwezaailingen was de effectieve concentratie phytotoxisch [60]. Behandeling van haverzaad gaf effect tegen *Tilletta tritici* en *Ustilago kolleri* [50].

Voor de practijk veel gunstiger resultaten zijn verkregen met het antibioticum streptomycine. Allereerst moet het goede resultaat vermeld worden, dat met sproeien van streptomycine bereikt werd tegen „fire blight", een bacterieziekte bij appel- en perebomen in de V.S., die in Nederland niet voorkomt. De veroorzaker, de bacterie *Erwinia amylovora*, tast de bloesem aan, zodat geen vruchtzetting plaats vindt en doet de bladeren verbruinen alsof ze door vuur verschroeid zijn; doch ook het jonge fruit, grote takken, de stam en de wortels kunnen worden aangetast, zodanig dat een afsterving van de boom kan plaats hebben. Na schurft is fire blight de meest kostbare ziekte bij appelbomen in de V.S. Tot voor kort was koper het enige bestrijdingsmiddel dat effect had. Er moest dikwijls gespoten worden, terwijl het fruit vaak in waarde daalde door het ontstaan van „russeting".

In proeven genomen in 1951 vond MURNEEK [55] als eerste, dat bespuiting met streptomycine een goed effect had. Meer uitgebreide proeven in volgende jaren bevestigden deze waarneming geheel [2, 68, 35, 19, 26]. Dit jaar voor het eerst wordt streptomycine op grote schaal in de handel gebracht tegen „fire blight" door twee Amerikaanse firma's, n.l. Merck en Pfizer, welke laatste aan het streptomycine enig terramycine heeft toegevoegd, en dit onder de naam agrimycine op de markt brengt.

Driemaal sproeien met agrimycine in een concentratie van 50 of 100 p.p.m. gaf uitstekende resultaten [26] en had geen phytotoxisch effect op de boom of de vrucht, zoals bij kopertoediening. De verwachtingen zijn dan ook hoog gespannen.

Verder worden gunstige resultaten van streptomycine of agrimycine gemeld tegen de bacterieziekten, veroorzaakt door Xanthomonas juglandis bij walnoot [3, 4], Pseudomonas tabaci bij tabak [5, 34, 39], Xanthomonas vesicatoria bij peper [12], Pseudomonas medicaginis f. phaseolicola bij boon [70], Xanthomonas pruni bij perzik [18], en Erwinia chrysanthemi bij chrysant [59].

Ook tegen een tweetal schimmelziekten wordt resultaat van streptomycine vermeld, n.l. tegen *Peronospora tabacina* bij tabak [31] en tegen *Phytophthora infestans* bij tomaat na opzuiging door een afgesneden stengel [54].

Bijzonder hoopvolle resultaten werden met streptomycine verkregen in Nieuw-Zeeland tegen een bacterieziekte bij steenvruchten, veroorzaakt door *Pseudomonas syringae*. Deze ziekte veroorzaakt aanzienlijke verliezen, en tot nog toe waren er geen afdoende bestrijdingsmiddelen beschikbaar [22, 23].

Hoewel streptomycine tot de weinig phytotoxische antibiotica gerekend moet worden, is het vooral in hoge concentratie toch niet geheel onschadelijk voor diverse planten. Sproeien met een oplossing van 500 p.p.m. veroorzaakte chlorose bij perebomen [18]. Het heeft een blekende werking tengevolge van de destructie van de chloroplasten [9]. SCHOPFER [62] constateerde een blokkering van de biosynthese van carotenoïden door streptomycine.

De twee juist besproken antibiotica, het fungicide, nogal phytotoxische actidione en het bactericide, veel minder schadelijke streptomycine zijn de antibiotica, die het tot nog toe het verst gebracht hebben wat toepassing in de practijk tegen plantenziekten betreft. Daarnaast worden echter, verspreid over de gehele wereld, proeven genomen met andere antibiotica, die zeer uiteenlopen wat hun effect tegen phytopathogene organismen en hun phytotoxiciteit betreft. Het zou te ver voeren in het kader van deze voordracht hier een overzicht van te geven. Alleen zou ik nog willen noemen terramycine, dat behalve enig effect tegen *Erwinia amylovora* en *Pseudomonas syringae*, ook werkt tegen een bacterieziekte bij de perzik [17, 18], helixine en antimycine, die bestudeerd worden als uitwendig ontsmettingsmiddel van graanzaden [45, 46, 47] en rimocidine, waarvan op het Laboratorium voor Phytopathologie te Wageningen gevonden is, dat het een sterke werking heeft tegen schimmels in zaden [16].

Van sommige antibiotica wordt een stimulerende werking op de plant gemeld. Terramycine en leucomycine hadden invloed op de strekkingsgroei van komkommerzaailingen [44]. Streptomycine bleek de wortels van tabak meer vezelachtig te maken [34] en de groei van eendenkroos werd sterk gestimuleerd door toevoeging van enkele antibiotica [56].

Bij het zoeken naar antibiotica die actief zijn tegen plantenziekten, wordt ook vaak gewerkt met suspensies of filtraten van cultures, waarin het antibioticum in ongezuiverde toestand aanwezig is. DARPOUX en FAIVRE-AMIOT [14] verkregen met cultuurvloeistoffen van stammen van *Aspergillus niger* effect tegen schurft bij perebomen, en KLINKOWSKI [42] kreeg door driemaal te spuiten met cultuurfiltraten van *Penicillium no. 119/9a*, een stam van Streptomyces griseus, en *Streptomyces 189/3c* volledige onderdrukking van appelmeeldauw; de beide eerstgenoemde cultuurfiltraten waren echter phytotoxisch.

Ook tegen virusziekten wordt effect gemeld zowel van cultuurfiltraten als van antibiotica. Sommige onderzoekers denken aan directe werking van het antibioticum op het virus [61], andere aan een indirecte werking [32, 63, 48].

Uit het bovenstaande kunnen we opmaken dat, hoewel reeds vele antibiotica bekend zijn, er op het ogenblik nog slechts één antibioticum voor toepassing op grotere schaal in de practijk in aanmerking komt, n.l. het streptomycine, en wel tegen een bacterieziekte die in Nederland niet voorkomt, n.l. „fire blight"; meer beperkte toepassingsmogelijkheden heeft actidione, o.a. tegen *Coccomyces hiemalis* in kersebomen.

Het onderzoek is echter nog pas aan de gang, het is eigenlijk pas de laatste vijf jaar enigszins op dreef gekomen; en het moet, gezien voorlopige proeven in het buitenland, niet uitgesloten worden geacht dat ook tegen ziekten waar we hier in Nederland nog moeite mee hebben, zoals b.v. de appelmeeldauw, nog eens bruikbare antibiotica gevonden zullen worden.

Inwendige zaadontsmetting

Bij de ontsmetting van zaaizaad leveren in het bijzonder die schimmels en bacteriën moeite op, die zich ook *in* het zaad bevinden en met de gangbare middelen als TMTD en kwik niet bereikt kunnen worden. Het ligt voor de hand dat proeven genomen werden met antibiotica, die immers plantenweefsel bleken te kunnen binnendringen.

In Canada waren het Wallen en Skolko, die door weken van erwtenzaden in een antibioticum, *Ascochyta pisi* trachtten te bestrijden. Ze hadden succes met een antibioticum, gewonnen uit een organisme, nauw verwant aan *Bacillus subtilis* dat ze Antibiotic XG noemden [65]. Ook actidione had effect, doch was phytotoxischer dan „Antibiotic XG" [66].

In Duitsland konden Klinkowski en Köhler [40] in sterke mate het aantal zieke planten uit met vetvlekkenziekte besmet bonenzaad reduceren door het zaad voor het uitzaaien gedurende één of twee uur te weken in een cultuurfiltraat van een stam van *Penicillium chrysogenum* of van *Streptomyces griseus.*

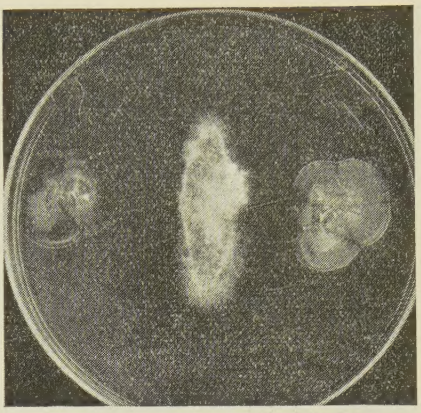
Stuifbrand bij gerst en tarwe werd tegengegaan door de zaden 1½ uur te weken in een cultuurfiltraat van een Penicillium-stam [41].

In Wageningen zijn proeven genomen ter bestrijding van *Ascochyta pisi* in erwtenzaden. Hiertoe worden erwtenzaden, die in sterke mate geïnfecteerd zijn met *Ascochyta pisi*, gedurende 24 uur geweekt in de te toetsen vloeistof, en daarna uitgelegd op vochtig filtreerpapier. Na vijf dagen wordt nagegaan op hoeveel zaden zich mycelium van *Ascochyta pisi* ontwikkeld heeft.

Daar behalve het phytotoxische actidione, geen fungicide antibiotica beschikbaar waren, is getracht antibiotica te verkrijgen uit cultures van schimmels, actinomyceten en bacteriën. Een van de getoetste actinomyceten, n.l. *Streptomyces rimosus*, betrokken van het Centraal Bureau voor schimmelcultures te Baarn, bleek o.a. op havermoutagar een groot aantal schimmels in sterke mate te antagoneren, waarbij de groeivrije zone tussen de streptomyceet en het te toetsen organisme vaak zeer groot was.

Klaarblijkelijk diffundeert vanuit de streptomyceet een antibioticum in de agar, dat de betreffende schimmel verhindert op die plaats te groeien.

De streptomyceet werd, wanneer zij ruim een week oud was, tezamen met de voedingsbodem onder toevoeging van een bepaalde hoeveelheid water, fijngemalen in een Waring blendor. Deze suspensie, die kortweg „rimag" genoemd wordt, werd op de boven omschreven wijze getoetst tegen *Ascochyta pisi*. Rimag nu bleek in sterke mate het aantal zaden waarop mycelium uitgroeide, te onderdrukken. Bij 200 zaden van het ras Servo, die in water geweekt waren, bleek op 60 zaden mycelium te groeien, en bij een zelfde aantal in „rimag" geweekt, op 6 zaden. Bovendien bleek het weken in „rimag" niet schadelijk te zijn voor de kieming en de ontwikkeling van de plant.



De schimmel Ascochyta pisi (midden) wordt door de antagonerende werking van Streptomyces rimosus (aan weerszijden) verhinderd in de richting van deze streptomyceet te groeien.

De vraag rees of de actieve stof in „rimag", welke een zo sterke fungicide werking had zonder schadelijk te zijn voor de plant, een reeds bekend antibioticum was. Het bekende antibioticum uit *Streptomyces rimosus* nu is terramycine. Dit heeft echter bactericide werking, en bleek dan ook geen effect te hebben op *Ascochyta pisi*, in vitro noch in vivo. Nu was echter in 1951 door DAVISSON c.s. [15], onderzoekers van de pharmaceutische industrie van Pfizer te New York, een antibioticum rimocidine uit *Streptomyces rimosus* gewonnen, waarvan activiteit tegen huidschimmels gemeld werd.

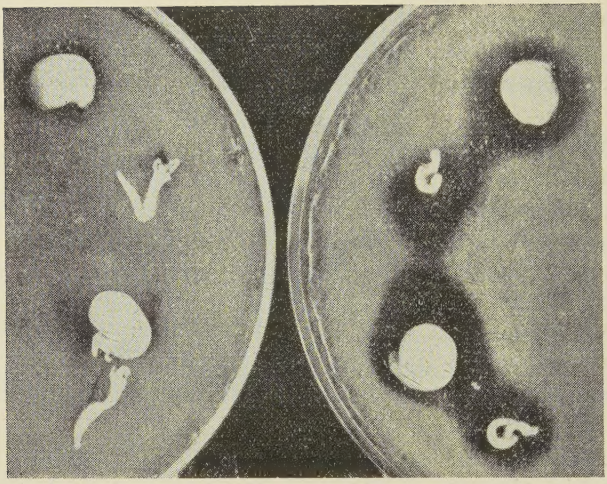
De firma Pfizer was zo welwillend op ons verzoek enig rimocidine af te staan, zodat dit in de bovengenoemde Ascochyta-toets onderzocht kon worden. Dit nu bleek een minstens even gunstige werking tegen de Ascochyta-ziekte in erwtenzaden te hebben als „rimag", zodat het voor de hand ligt te veronderstellen, dat de actieve stof in rimag rimocidine is.

Rimocidine bleek in vitro een groot aantal schimmels te remmen, w.o. *Mycosphaerella pinodes* en *Ascochyta pisi*.

Ook in de bovengenoemde Ascochyta-toets op vochtig filtreerpapier was het effect aanzienlijk. Van 100 zaden van het ras Dopper Eminent vertoonden 85 schimmelmycelium na weken in water en slechts één na weken in rimocidine 100 p.p.m.

Tabel I. Ontwikkeling van Ascochyta-mycelium op erwtenzaden, ras Dopper Eminent, besmet met Asc. pisi, ged. 18 uur geweekt in water, resp. rimocidine 100 p.p.m.

Geweekt in:	Aantal zaden	Myceliumontwikkeling
Water	100	85
Rimocidine	100	1



Doordringing van rimocidine in cotylen en kiempjes van gezonde erwten, ras Rondo. De in water geweekte zaaddelen remmen de toetsschimmel niet, de in rimocidine geweekte wel.

Erwten, ras Dopper Eminent, opgegroeid uit natuurlijk met Ascochyta pisi besmet zaad. Links en midden: uit zaad, geweekt in water. Rechts: uit zaad, geweekt in rimocidine.

Weken in de werkzame concentratie van 100 p.p.m. rimocidine bleek de kieming niet nadelig te beïnvloeden. De ontwikkeling der planten uit zaden bleek evenmin door 100 p.p.m. geremd te worden.

Opmerkelijk is het verschil tussen de kieming van erwten na weken in de tegen *Ascochyta pisi* werkzame concentraties van actidione (25 p.p.m.) en rimocidine (100 p.p.m.). Het eerste antibioticum geeft een sterke vertraging van de kieming, terwijl rimocidine geen remmende invloed heeft.

Aangetoond kon worden dat het antibioticum door de zaadhuid tot in de cotylen en het kiempje doordringt. Hiertoe werden zaden, die geweekt waren in rimocidine, van de zaadhuid ontdaan, waarna de cotylen en de kiempjes uitgelegd werden op kersagar, waarop sporen uitgezaaid waren van de schimmel *Cladosporium cucumerinum*, die geremd wordt door rimocidine. Nu bleken cotylen en kiempjes van in rimocidine geweekte zaden een remmingszone te veroorzaken, maar niet die van de in water geweekte zaden.

Dat de schimmel in het zaad gedood wordt, blijkt uit het feit, dat uit in rimocidine geweekte zaden na doorsnijden en uitleggen op havermoutagar geen schimmelmycelium meer groeit, doch wel uit in water geweekte zaden.

De vraag was, hoe het effect van rimocidinebehandeling geconstateerd zou kunnen worden bij in de grond uitgezaaide erwten. Daartoe dienen wij de ontwikkeling van de schimmel in de uitgezaaide erwten na te gaan. Wanneer Ascochyta-zieke erwten uitgezaaid worden, blijkt een gedeelte niet op te komen. Aan de planten die wel opkomen, zijn de eerste anderhalve week na opkomst geen symptomen waar te nemen. Door-

gaans in de derde week na opkomst (onder kasomstandigheden bij grondtemperaturen van ± 15° C; op het veld zullen deze tijden vermoedelijk langer zijn) verschijnt op het epicotyle stengeldeel ter hoogte van het grondoppervlak een grauwachtig, wat ingezonken ovaal plekje, dat na enkele dagen donkerbruin wordt. Na enige tijd wordt het centrum van deze vlek lichtgekleurd en ontstaan daarin de pycniden; het lichte centrum is omgeven door een donkere rand. Zieke planten nu, opgegroeid uit geïnfecteerde zaden noemen we *secundair ziek*.

De vlekjes blijven bij krachtige planten scherp begrensd, terwijl de kleine zwaar aangetaste planten onder vochtige omstandigheden vaak geheel door de schimmel overwoekerd worden en doodgaan. Ondanks de scherpe begrenzing in het eerste geval bleek *Ascochyta pisi* toch in vele gevallen uit alle stukjes van het stengeldeel tussen de cotylen en de secundaire vlek geïsoleerd te kunnen worden. Hoewel de secundaire vlekken doorgaans op het bovengenoemde stengeldeel optreden, kunnen ze ook op andere delen van het jonge kiemplantje, o.a. de bladeren, ontstaan. Bij een partij zaad van het ras Dopper Eminent, dat voor bijna 90 % besmet was met *Ascochyta pisi*, kwam in onze proeven na uitzaaien in steriele grond in de warme kas gemiddeld één derde niet op, gaf één derde der planten Ascochyta-vlekjes en was de rest gezond.

Door opwekking van een kunstmatige „storm en regen" over een bakje met secundair zieke planten, konden na ± 10 dagen primaire symptomen op stengel en bladeren te voorschijn geroepen worden.

Ascochyta pisi blijft niet in de grond over. Het is dus duidelijk, dat de vlekkenziekte telkenjare vanuit secundair zieke planten, opgegroeid uit ziek zaad, verspreid wordt, en op deze wijze de vruchten van de nieuwe oogst kan aantasten, waarmee de cyclus gesloten is.

In kasproeven nu werd het effect nagegaan van rimocidinebehandeling op het aantal secundair zieke plantjes, dat uit zieke zaden ontstaat. Uit 150 zaden ontstonden 57 zieke plantjes na behandeling in water, en slechts één na behandeling met rimocidine. Verder blijkt dat door verhoging van de concentratie boven 100 p.p.m. geen beter effect verkregen wordt.

Tabel II. Aantal opgekomen en secundair zieke planten uit erwtenzaden, ras Dopper Eminent, besmet met Ascochyta pisi, gedurende 24 uur geweekt in verschillende concentraties rimocidine

Geweekt in:	Per 150 zaden	
	opkomst	secundair ziek
Water	103	57
Rimocidine 50 p.p.m. . .	107	11
„ 100 „ . .	104	1
„ 150 „ . .	110	1
„ 200 „ . .	109	1
„ 300 „ . .	104	1

De duur van het weken geeft boven 24 uur vermoedelijk geen verbetering van het effect.

Tabel III. Dopper Eminent, besmet met Ascochyta pisi, gedurende verschillende tijden geweekt in rimocidine 100 p.p.m.

Geweekt in:	Per 100 zaden	
	opkomst	secundair ziek
24 uur water	59	38
Rimocidine 16 uur	80	6
„ 24 „	79	0
„ 32 „	82	1
„ 40 „	74	0

Een indruk van de invloed van de bodemtemperatuur op de werking van rimocidine geeft tabel IV.

Tabel IV. Aantal opgekomen en secundair zieke planten uit erwtenzaden, ras Dopper Eminent, besmet met Ascochyta pisi, na 24 uur weken in rimocidine 100 p.p.m. resp. water, uitgezaaid bij hoge, resp. lage grondtemperatuur

Bodemtemperatuur	Per 200 zaden			
	opkomst		secundair ziek	
	H_2O	rimocidine	H_2O	rimocidine
14—30°C	105	96	34	3
6—12°C	119	137	64	0

Rimocidine gaf in deze proef een beter effect bij de lagere temperatuur, die meer overeenkomt met de bodemtemperatuur in het veld in het voorjaar. De betrouwbaarheid van dit verschil dient echter nader getoetst te worden in een proef met een groter aantal zaden.

Een verklaring van de verschillen in tabel IV zal gezocht moeten worden in de verandering die de verhouding parasiet-plant-antibioticum ondergaat tengevolge van de temperatuur. Hoe deze houding beïnvloed kan worden, is nog een punt van nader onderzoek. Bovendien staat vast dat het antibioticum bij hoge temperatuur sneller afgebroken wordt dan bij lage temperatuur.

Onderzocht is ook welke invloed rimocidine in verschillende concentraties heeft op de opkomst van zieke en van gezonde zaden.

Uit de cijfers van tabel V blijkt dat de tegen Ascochyta werkzame concentratie van 100 p.p.m. geen nadelige invloed heeft op de opkomst, noch bij gezonde, noch bij zieke erwten; 50 p.p.m lijkt een aanvankelijke stimulering van de opkomst te geven. De hogere concentraties 200 en 300 p.p.m. geven bij gezonde erwten enige vertraging in de kieming, welke achterstand later echter grotendeels wordt ingelopen.

Tabel V. Opkomst na 12 en 26 dagen van gezonde Rondo erwten (links) en zieke Dopper Eminent erwten (rechts), 24 uur geweekt in verschillende concentraties rimocidine

Geweekt in:	Rondo, gezond Opkomst per 100 erwten		Dopper Eminent, ziek Opkomst per 150 erwten	
	na 12 dagen	na 26 dagen	na 12 dagen	na 26 dagen
Water	80	88	60	103
Rimocidine 50 p.p.m.	92	94	77	107
„ 100 „	80	91	68	104
„ 150 „	70	90	72	110
„ 200 „	63	82	64	109
„ 300 „	44	82	53	104

Daar het weken van zaden bezwaarlijk is voor de practijk, zijn proeven opgezet waarbij het zaad een „slurry" behandeling onderging. Het antibioticum wordt dan met een hechtmiddel, carboxy-methylcellulose en een minieme hoeveelheid water in een laagje om de erwt aangebracht. De zaden zwellen dan niet en zijn binnen enkele minuten droog en verhandelbaar. De vraag was nu of na uitzaaien, tijdens de kieming van het zaad, tegelijk met het water ook antibioticum opgenomen zou worden in voldoende hoeveelheden om actief te zijn tegen de schimmel in het zaad.

Direct na behandeling werd het zaad uitgezaaid en na enkele weken het aantal secundair zieke plantjes beoordeeld.

Tabel VI. Met Ascochyta pisi besmette erwten, ras Dopper Eminent, behandeld met rimocidine in de vorm van een „slurry"

	Per kistje met 50 zaden				Totaal
	Aantal secundair zieke planten				
Onbehandeld	24	22	17	18	81
Rimocidine „slurry" . . .	1	0	1	1	3
	Aantal opgekomen planten				
Onbehandeld	33	33	29	27	122
Rimocidine „slurry" . . .	31	29	33	33	126

Terwijl bij het onbehandelde object 40 % der zaden zieke planten geeft, is dit slechts 1½ % voor de met rimocidine behandelde zaden. Deze behandeling doet dus niet onder voor weken. Of ook in veldproeven een 25-voudige reductie optreedt van het aantal secundair zieke planten, en of door deze reductie de uitbreiding van de ziekte over het veld in beduidende mate verminderd wordt, zal dit jaar in veldproeven onderzocht

worden. Ook bleek rimocidine te werken tegen *Colletotrichum lindemuthianum* in bonen en tegen *Stemphylium radicinum* bij wortelzaden. De vraag of rimocidine mogelijk in de practijk zal kunnen worden toegepast, kan momenteel nog niet worden beantwoord; de resultaten der veldproeven, de stabiliteit van de stof en de prijs zullen een rol spelen bij de beantwoording van deze vraag.

Uit bovenstaande proeven kan de conclusie getrokken worden, dat het in principe mogelijk is schimmels, die zich in het inwendige van het zaad bevinden, te doden met stoffen, die in werkzame concentratie niet schadelijk zijn voor het zaad.

Samenvatting

Vele antibiotica die werkzaam zijn tegen phytopathogene organismen, worden opgenomen door en getransporteerd in de plant. Zij trekken dan ook vooral de aandacht bij het zoeken naar bestrijdingsmiddelen tegen die parasieten, die met de gangbare, uitwendige bestrijdingsmiddelen niet of moeilijk bestreden kunnen worden, omdat ze zich in het inwendige van de plant (bijv. vaatziekte) of van het zaad bevinden. De phytotoxiciteit van sommige antibiotica vormt echter een belemmering voor practische toepassing.

Tot nu toe zijn een honderdtal antibiotica gevonden met werking tegen plantenparasieten. Voor landbouwkundig gebruik in de handel zijn nog slechts streptomycine (waaraan al dan niet enig terramycine toegevoegd is) tegen fire blight in appel- en perebomen, en actidione tegen een bladvlekkenziekte bij kersen. Ook van enkele andere antibiotica is toepassing in de practijk niet uitgesloten.

In Wageningen zijn proeven verricht met een cultuurvloeistof van *Streptomyces rimosus*. Indien erwtenzaden gedurende 24 uur in deze cultuurvloeistof werden geweekt, bleek het mogelijk de schimmel *Ascochyta pisi*, die zich in het inwendige van de zaden bevindt, te doden zonder schadelijk effect op de kieming. Aangetoond kon worden dat de actieve stof hierin het in 1951 in Amerika ontdekte rimocidine was, waarna de proeven hiermee voortgezet werden.

Daar weken van het zaad voor de practijk bezwaren heeft, werden ook proeven genomen met een „slurry" methode, waarbij het antibioticum met behulp van een hechtmiddel en een minieme hoeveelheid water om het zaad wordt gebracht, en pas nà het zaaien tijdens de kieming kan binnendringen. In kasproeven kon het aantal secundair zieke planten, waarbij de schimmel dus uit het zaad komt, na uitzaaien van een zwaar zieke partij Dopper Eminent door genoemde behandeling van 40 % tot 1½ % teruggebracht worden. Er zijn aanwijzingen, dat bij lagere temperatuur, meer overeenkomend met veldomstandigheden in het voorjaar, het effect van rimocidine nog sterker is. Dit wordt nagegaan in veldproeven.

Discussie

Prof. dr T. H. Thung, Wageningen: Zijn de antibiotica specifiek en is er iets bekend van het mechanisme van de werking?

Antwoord: Dat antibiotica zeer specifiek kunnen zijn, blijkt uit het voorkomen van stammen in een schimmel- of bacterie-species die resistent zijn tegen een bepaald antibioticum, b.v. in *Erwinia amylovora* tegen streptomycine.

Over het werkingsmechanisme is nog weinig bekend. Wat streptomycine betreft, vonden enkele onderzoekers dat het invloed heeft op de enzymen die betrokken zijn bij de synthese en afbraak van hogere sacchariden; vermoed wordt dat het zich met de SH-groepen van de enzymen verbindt en deze daardoor onwerkzaam maakt.

Ir R. E. Labruyère, Wageningen: Hoe maakt men uit of een antibioticum direct of indirect op een virus werkt?

Antwoord: Het antibioticum kan op twee wijzen toegediend worden, n.l. direct aan de plant óf aan het virus vóórdat inoculatie heeft plaats gehad. Wordt in het eerste geval wél effect tegen de betreffende ziekte verkregen en in het tweede geval niet, dan heeft de werking van het antibioticum op het virus indirect, d.w.z. via de plant plaats.

Ir L. Bravenboer, Naaldwijk: Wat is bekend over toxische effecten der antibiotica ten opzichte van de mens?

Antwoord: Opname van antibioticum door de mens kan een eventueel later noodzakelijke therapie met hetzelfde antibioticum in de weg staan. Hoewel vele antibiotica instabiel zijn, dient bij toepassing in de practijk met deze en eventueel andere ongewenste effecten rekening gehouden te worden.

Ir A. M. van Doorn, Wageningen: Kan spreker literatuur opgeven over een gunstig bestrijdingseffect van streptomycine op Phytophthora en Peronospora, en werkt rimocidine ook op deze beide schimmels?

Antwoord: Zie literatuurlijst no. [54] en [31]. Rimocidine is nog niet tegen deze schimmels getoetst.

Ir E. Drijfhout, Leeuwarden: Hoe snel worden antibiotica in de plant afgebroken? Dit in verband met bespuiting van consumptiegewassen.

Antwoord: Dit is zeer verschillend voor diverse antibiotica. Hoewel vele zeer snel worden afgebroken in plantenweefsel, zijn er andere, die na enkele weken nog in de plant aantoonbaar zijn.

Drs G. Scholten, Aalsmeer: Kunt U gegevens verschaffen over het optreden van resistentie tegen antibiotica bij phytopathogene bacteriën? Is het juist dat men, om dit gevaar te ondervangen, gemengde antibiotica in de handel wil brengen?

Antwoord: Onderzoekers van de Amerikaanse firma Pfizer verkregen in vitro resistente stammen van *Erwinia amylovora* en *Xanthomonas vesicatoria* na herhaalde behandeling met streptomycine. Dit werd vertraagd door toevoeging van terramycine. Door de firma Pfizer wordt nu agrimycine in de handel gebracht, bevattende 15 % streptomycine, 1,5 % terramycine en inert materiaal.

Onderzoekers van de firma Merck, die onvermengd streptomycine in de handel brengt, delen mede dat ze in de practijk, na drie jaar spuiten met streptomycine, geen resistente stammen gevonden hebben tegen *Erwinia amylovora.*

Prof. Dr A. J. P. Oort, Wageningen: Hieraan kan toegevoegd worden dat een student aan het laboratorium voor phytopathologie in *Xanthomonas mors prunorum* stammen vond die resistent waren tegen streptomycine.

Drs A. Knol, Baarn: Hoe staat het met de prijs van antibiotica en de daarmee verband houdende economische toepassing?

Antwoord: De prijs, die aanvankelijk meestal hoog ligt, blijkt doorgaans sterk te dalen bij massale productie. De prijs van antibiotica voor landbouwkundig gebruik zal lager kunnen zijn dan voor geneeskundige doeleinden, aangezien de zuiverheidseisen in het eerste geval minder zwaar zullen zijn.

Ir P. J. Stadhouders, Breda: In de practijk zijn reeds gevallen bekend van „natuurlijke" bestrijding van bodemparasieten door stimulering van antibioticum producerende of op andere wijze antagonerende organismen door organische bemesting e.d. Heeft men de betreffende antibiotica reeds kunnen isoleren?

Antwoord: Reeds vele antibiotica zijn gewonnen uit bodemorganismen. Met deze antibiotica heeft men echter nog weinig resultaat geboekt bij de bestrijding van in de grond huizende plantenparasieten, daar de meeste antibiotica in de grond vrij snel geïnactiveerd worden.

Summary

Antibiotics in the control of plant diseases with special reference to the internal disinfection of seed

Many antibiotics toxic to phytopathogenic organisms are absorbed by and carried in the plant. Therefore, they are of special importance for the control of such parasites as can hardly, if at all, be fought with the customary external chemicals, because they are in the internal parts of the plants (for instance, vascular disease) or of the seed. For some antibiotics, however, phytotoxicity stands in the way of practical application.

So far about a hundred antibiotics have been found that are toxic to plant parasites. Only one antibiotic, however, has been adopted in practice, viz. streptomycin, which, with or without the addition of some terramycin, is used against fire blight, a bacterial disease in apple and pear trees in the U.S.A. Also some other antibiotics should be suited for practical purposes.

At Wageningen trials have been made with a culture-fluid of Streptomyces rimosus, in which the mould Ascochyta pisi, which is found in pea seeds, was killed without detrimental effect on the germination, by letting the seeds soak in this culture-fluid for 24 hours. It was found that the active matter here was rimocidin, which was discovered in America in 1951. Therefore the trials have been continued with rimocidin instead of the culture-fluid.

As soaking of the seeds has practical disadvantages, trials were also made with a slurry method, by which the antibiotic is placed round the seed with the aid of a sticker and a nominal quantity of water in such a way that it can only penetrate into the seed after sowing during germination. In glasshouse experiments with a heavily affected parcel of Dopper Eminent the number of seed-bome diseased plants, could after sowing be reduced from 40 to 1½ per cent by the above-mentioned treatment. There are indications that with lower temperatures, corresponding more or less with field conditions in spring, the effect of rimocidin is still stronger. This is being ascertained in field trials.

Literatuur

1. Anderson, H. W. and I. Nienow: Effect of streptomycin on higher plants. Phyt. **37**, 1947 : 1.
2. Ark, P. A.: Use of streptomycin dust to control fire blight. Plant Dis. Reprt. **37**, 1953 : 404—406.
3. Ark, P. A.: Experiments with streptomycin for walnut blight control. Diamond Walnut News **35**, 1953.
4. Ark, P. A.: Streptomycin for plant diseases. Calif. Agric. **8**, 1954 : 7—8.
5. Beach, W. S. and H. B. Engle: Tobacco wildfire control by streptomycin nitrate. Plant Dis. Reprt. **39**, 1955 : 15—16.
6. Blanchard, F. A. c.s.: Uptake of aureomycin through the roots of Phaseolus lunatus. Amer. Jour. Bot. **38**, 1951 : 111—112.
7. Bonde, R.: Studies on the control of potato late blight (phyt. inf.) with antibiotics. Phyt. **43**, 1953 : 463.
8. Boyle, A. M.: Further studies of the bacterial necrosis of the giant cactus. Phyt. **39**, 1949 : 1029—1052.
9. Bracco, M. and H. von Euler: Kem. Arb. II, 1947 : 1—4.
10. Brian, P. W. and J. M. Wright: Uptake of antibiotic metabolites of soil microorganisms by plants. Nature **167**, 1951 : 347—352.
11. Cation, D.: Experiments with actidione for control of cherry leaf spot (Coccomyces hiemalis). Phyt. **43**, 1953 : 468.
12. Cox, R. S. c.s.: Preliminary tests with antibiotics for the control of bacterial leaf spot of pepper. Delaware Agric. Exp. Sta., 1954.
13. Crowdy, S. H. c.s.: Systemic distribution of antibiotics. Congr. Int. Bot. 1954 Paris. Rapports et commun. parvenus avant le congres, sect. 21—27, p. 88—90.
14. Darpoux, H. et A. Faivre-Amiot: Action curative de quelques substances antibiotiques et d'un produit organomercurique sur la tavelure du pommier. C. R. Acad. Agric. France **37**, 1951 : 136—139.

15. DAVISSON, J. W. c.s.: Rimocidin, a new antibiotic. Antibiotics and Chemotherapy **1**, 1951 . 289—290.
16. DEKKER, J.: Internal Seed Disinfection by an Antibiotic from Streptomyces rimosus. Nature **175**, 1955 : 689—690.
17. DUNEGAN, J. C. c.s.: Effects of terramycin on peach trees affected with bacterial spot. Plant Dis. Reprt. **37**, 1953 : 604—605.
18. DUNEGAN, J. C. and R. A. WILSON: Some effects resulting from the introduction of antibiotics into fruit trees. Phyt. **43**, 1953 : 405.
19. DUNEGAN, J. C. c.s.: Control of pear blight by a streptomycin-terramycin mixture. Phyt. **44**, 1954 : 487.
20. DUNEGAN, J. C.: Antibiotics in plant disease control. Agric. and Food chem. **2**, 1954 : 1020—1022.
21. DUNLEAVY, J. M.: Control of damping-off of sugar beet by Bacillus subtilis. Phyt. **42**, 1952 : 465.
22. DYE, D. W.: Control of Pseudomonas syringae with streptomycin. Nature, **173**, 1953 : 683.
23. DYE, D. W. and M. H. DYE: Effectiveness of therapeutants including antibiotics in preventing development of blast of Stone fruit. (Pseudom. syringae). New Zealand Jour. of Science and Technol. Sec. A, **36**, 1954 : 21—26.
24. EVANS, E. and D. GOTTLIEB: The role of gliotoxin in the soil. Phyt. **42**, 1952 : 465.
25. FELBER, I. M. and C. L. HAMNER: Control of mildew on bean plants by means of an antibiotic. Bot. Gaz. **110**, 1948 : 324—325.
26. GOODMAN, R. N.: Fireblight control with sprays of agrimycin, a streptomycin-terramycin combination. Plant Dis. Reprt. **38**, 1954 : 874—878.
27. GOPALKRISHNAN, K. S. and J. A. JUMP: The antibiotic activity of thiolutin in the chemotherapy of the Fusarium wilt of tomato. Phyt. **42**, 1952 : 338—340.
28. GOTTLIEB, D. c.s.: Actidione as a plant protectant. Phyt. **40**, 1950 : 218—219.
29. GOTTLIEB, D.: The synthesis of antibiotics in soil. Congr. Int. Bot. 1954, Paris. Rapports et Commun. parvenus avant le congres.
30. GREGORY, K. F. and O. N. ALLEN: Antibiotics and antagonistic microörganisms as control agents against damping-off of Alfalfa. Phyt. **42**, 1952 : 613—622.
31. GROSSO, J. J.: Control of tobacco blue mold by antibiotics. Plant Dis. Reprt. **38**, 1954 : 333.
32. GUPTA, B. M. and W. C. PRICE: Production of plant virus inhibitors by fungi. Phyt. **40**, 1950 : 642—652.
33. HAMILTON, J. M. and M. SZKOLNIK: Factors, involved in the performance of cycloheximide (actidione) against Coccomyces Hiemalis. Phyt. **43**, 1953 : 109.
34. HEGGESTED, H. E. and E. E. CLAYTON: Control of tabacco wildfire with streptomycine-sulfate. Plant Dis. Reprt. **38**, 1954 : 661—665.
35. HEUBERGER, J. W. and P. L. POULOS: Control of fire blight and frog-eye leafspot (black rot) diseases of apples in Delaware in 1952. Plant Dis. Reprt. **37**, 1953 : 81—83.
36. JEFFERYS, E. G.: The stability of antibiotics in soils. J. Gen. Microbiol. **7**, 1952 : 295—312.
37. JOHNSON, L. F.: Control of rootrot of corn under greenhouse conditions by microörganisms antagonistic to Pythium arrhenomanes. Phyt. **42**, 1952 : 468.
38. JOHNSON, L. F.: Antibiosis in relation to Pythium root rot of sugar cane and corn. Phyt. **44**, 1954 : 69.
39. KIRBY, R. S.: Control of tobacco wildfire with streptomycin preparations. Plant Dis. Reprt. **39**, 1955 : 14.
40. KLINKOWSKI, M. und H. KÖHLER: Möglichkeiten der Entseuchung fettfleckenkranken Bohnensaatgutes durch Antibiotica. Die Dtsch. Landw. **3**, 1952 : 198—201.
41. KLINKOWSKI, M.: Alte und neue Möglichkeiten der Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschädlingen. Kühn-Archiv, **67**, 1953 : 33—49.
42. KLINKOWSKI, M.: Der Apfelmehltau und seine Bekämpfung durch Antibiotica. Mitt. aus der Biol. Bundesanstalt f. Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, **80**, 1954 : 95—98.
43. KÖHLER, H.: Biologische Arbeitsmethoden der Antibiotika-Forschung. Nachr. f.d. Dtsch. Pfl. **8**, 1954 : 1.

44. KRIBBEN, F. J.: Der Einfluss der Antibiotica Terramycin und Leucomycin auf das Streckungswachstum höherer Pflanzen. Die Naturwiss. **41**, 1954 : 144—145.
45. LEBEN, C. c.s.: Effectiveness of certain antibiotics for the control of seed-borne diseases of small grain. Phyt. **44**, 1954 : 704.
46. LEBEN, C. c.s.: Small grain seed treatment with the antibiotic Helixin B. Phyt. **43**, 1953 : 391.
47. LEBEN, C. and G. W. KEITT: Effects of antibiotics in control of plant diseases. J. Agric. and Food Chem. **2**, 1954 : 234—239.
48. LEBEN, C. and R. W. FULTON: Effect of certain antibiotics on lesion production by two plant viruses. Phyt. **42**, 1952 : 331—335.
49. MEREDITH, C. H.: Soil actinomycetes applied to banana plants in the field. Phyt. **36**, 1946 : 983—987.
50. MILLER, P. R.: Seed-treatment tests on oats for smut control 1953—1954. Agric. Chem. **10**, 1955 : 56.
51. MITCHELL, J. W. c.s.: Translocation of streptomycin in bean plants and its effect on bacterial blights. Science **115**, 1952 : 114—115.
52. MITCHELL, J. W. c.s.: Movement of streptomycin in bean plants. Phyt. **43**, 1953 : 480.
53. MITCHELL, J. W. c.s.: Adsorption and translocation of streptomycin by bean plants and its effects on the halo and common blight organisms. Phyt. **44**, 1954 : 25—30.
54. MULDER, K. O. c.s.: Effect of streptomycin on the host-pathogen relationship of a fungal phytopathogen. Nature **174**, 1954 : 878—879.
55. MURNEEK, A. F.: Thiolutin as a possible inhibitor of fire blight. Phyt. **42**, 1952 : 57.
56. NICKEL, L. G. and A. C. FINLAY: Growth modifiers, antibiotics and their effects on plant growth. J. Agric. and Food Chem. **2**, 1954 : 178—182.
57. PRAMER, D.: Observations on the uptake and translocation of five Actinomycete antibiotics by cucumber seedlings. Ann. Appl. Biol. **40**, 1953 : 41.
58. PRAMER, D.: The movement of chloramphenicol and streptomycin in the broad bean and tomato plants. Ann. of Botany New. ser. **18**, 1954 : 463—470.
59. ROBINSON, R. S. c.s.: Control of bacterial wilt of chrysanthemums with streptomycin. Phyt. **44**, 1954 : 646—650.
60. SILVERMAN, W. B. and H. HART: Antibiotics tested for control of wheat stem rust. Phyt. **44**, 1954 : 506.
61. SCHLEGEL, D. E. and T. E. RAWLINS: Inhibition of tobacco mosaic virus by an antibiotic from an Actinomycete, Nocardia species. Phyt. **44**, 1954 : 328—329.
62. SCHOPFER, W. H. c.s.: Arch. Sci. Geneva, **5**, 1952 : 1—4.
63. SLAGLE, C. W. c.s.: Inhibition of plant virus infection by growth products of Neurospora. Phyt. **42**, 1952 : 240.
64. TVEIT, M.: Control of a seed borne disease by Chaetomium cochlioides Pall., under natural conditions. Nature **172**, 1953 : 39.
65. WALLEN, V. R. and A. J. SKOLKO: Antibiotic XG as a seed treatment for the control of leaf and pod spot of peas, caused by Ascochyta pisi. Canad. J. Res. C. **28**, 1950 : 632—636.
66. WALLEN, V. R. and A. J. SKOLKO: Activity of antibiotics against Ascochyta pisi. Canad. J. Bot. **29**, 1951 : 316—323.
67. WEINDLING, R. c.s.: Antibiosis in relation to plant diseases. Ann. Rev. Microbiol. **4**, 1950 : 247—260.
68. WINTER, H. F. and H. C. YOUNG: Control may be achieved by antibiotics. Ohio Farm and Home Research, **3**, 1953.
69. YOUNG, W. J. and R. H. FULTON: A field test of several fungicides for the control of powdery mildew on Lucretia dewberry in 1951. Plant Dis. Reprt. **35**, 1951 : 540—541.
70. ZAUMEYER, W. J. c.s.: Field control of halo blight of beans with streptomycin. Phyt. **43**, 1953 : 407.